Münster 1937 No 119 Med DiSS

Aus dem serologischen Institut der
Landesversicherungsanstalt Westfalen, Ambrock / Hagen i. W.
Direktor: Professor Dr. E. Meinicke.

Die Zentrifugiermethode (Z. M.) der MKR. II als Lues- und Immunitätsreaktion im Vergleich zu der Mikroprobe.

⚙

INAUGURAL-DISSERTATION
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät der Westfälischen
Wilhelms-Universität zu Münster (Westf.)

vorgelegt von

Claus Popken
aus Wilhelmshaven.

1935.

Gedruckt in der Dissertationsdruckerei von Robert Kleinert in Quakenbrück.

Dekan: Professor Dr. Jötten.

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster (Westf.)

Das **Zentrifugieren** wird **in der Serologie** teils zur **Beschleunigung** des Ablaufes serologischer Reaktionen, teils zur **Verschärfung** der Ergebnisse benutzt. In der Hauptsache findet die Zentrifugiermethode (Z.M.) ihre Anwendung

1. bei Immunitätsreaktionen und
2. bei Luesreaktionen.

Es ist das unzweifelhafte Verdienst von Gaethgens (1) gewesen, die Z.M. zuerst für die Serologie nutzbar gemacht zu haben. Er hat schon im Jahre 1906 eine Arbeit veröffentlicht, in der er zur Abkürzung der Versuchsdauer bei der Bakterienagglutination das Zentrifugieren empfiehlt. Gleichfalls bei **Immunitätsreaktionen,** z. B. **Abortus Bang** und **Rotz der Pferde,** hat die Z.M. in der Veterinärmedizin zu diagnostischen Zwecken weite Verbreitung gefunden. Ein unentbehrliches Hilfsmittel ist die Z.M. ferner bei der Differentialdiagnose von Mischinfektionen, z. B. Typhus — Paratyphus, in der Literatur bekannt unter dem Namen „Castellanischer Versuch".

Jakobsthal (2) war der erste, der die Z.M. auf die **Luesdiagnostik** anwandte. Er wollte aber mit ihr keine Abkürzung oder gar Verstärkung der Reaktion zwischen Serum und Extraktmischung erzielen, sondern nur beweisen, daß in dem auszentrifugierten Sediment die ablenkenden Komponenten der Wa.R. enthalten seien. Es kam ihm also nur darauf an, diese Stoffe im Zentrifugat zu konzentrieren. Später empfahlen Gaethgens und Meyer (3) zu gleicher Zeit die Z.M. zur Beschleunigung der Sachs-Georgi'schen Reaktion. Allerdings will Gaethgens diese Modifikation der Reaktion nur angestellt wissen, wenn man in kurzer Zeit das Resultat braucht, sonst soll man lieber die Originalmethode anwenden, weil doch häufig thermolabile Flocken zu Unspezifitäten führen können. Bruck (4) benutzte in seiner B.R. ebenfalls die Z.M., und zwar brachte er schon ausgefällte Lipoidsuspensionen mit Serum zusammen, zentrifugierte ungefähr 20 Minuten bei 2000 Umdrehungen und erhielt damit ganz brauchbare Resultate.

Müller (5) hat für seine M.B.R. II ebenfalls eine Z.M. angegeben, die eine Beschleunigung der Reaktion herbeiführt.

Schlesmann (6) hat, auf den Erfahrungen Gaethgens fußend, mit Meinickes Klärungsextrakt I eine Z.M. ausgearbeitet, die sich als recht zuverlässig erwies. Schlesmann mischte **aktives** Serum und Extraktverdünnung nach der Originalmethode von Meinicke und zentrifugierte 5 Minuten bei 2000 Umdrehungen. Die positiven Seren geben ein knopfförmiges Sediment, das beim Hin- und Herschütteln in schollige Bröckel zerfällt, die in der klaren Flüssigkeit herumschwimmen. Die negativen Seren ergeben ein zerfließliches Sediment, das beim Aufschütteln als schleimige Fahne emporwirbelt und dann die Flüssigkeit trübt. Bei der Verwendung **inaktiver** Sera schränkt er Serum- und Extraktmenge ein und zentrifugiert bei gleicher Zeit und Geschwindigkeit. Nach dem Zentrifugieren füllt er die Röhrchen mit 0,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung auf, schüttelt durch und liest in der gleichen Weise ab wie vorher.

1929 veröffentlichte Hohn (7) eine Z.M. für die M.K.R. I, ebenfalls zur Beschleunigung der Methode, der er den Namen „Schnellreaktion“ gab. Hohn verwendet „stabilisiertes“, d. h. bei 52,5 Grad erwärmtes Serum; auch die zur Extraktverdünnung benutzte 3,5 % NaCl-Lösung ist mit 0,1 % Sodazusatz „stabilisiert“. Zentrifugiert wird 4 Minuten bei 3000 Umdrehungen. Die Ablesung erfolgt mit einer Lupe. Im positiven Fall sieht man an der Peripherie des Sediments einen feinkörnigen, gezackten, hellen Niederschlag. Im negativen Fall ist die Umgebung des Bodensatzes homogen.

Gleichfalls 1929 teilte Laubenheimer in einem Vortrag eine Abkürzung der Versuchsdauer der M.K.R. I durch eine Z.M. mit, vermittels der er die Reaktionsdauer von 24 Stunden auf eine Stunde herabsetzen konnte. Diese kurzen historischen Daten über die Z.M. führen wohl die wesentlichsten Veröffentlichungen auf diesem Gebiete an, machen aber keinen Anspruch auf Vollständigkeit.

Meinicke selbst hat die Zentrifugiermethoden der verschiedenen Luesreaktionen einer Prüfung unterzogen. Nach seinen Erfahrungen ergibt bei der **M.B.R. II** die Originaltechnik mit Ablesung der Versuche nach 24 Stunden bessere und eindeutigere Resultate als die Z.M. Zudem verzichtet ja auch Müller, wenn er die Z.M. der M.B.R. II ansetzt, bei allen mittelstarken und schwachen Reaktionen auf den besonders schönen und eleganten Indikator der Ballenbildung. Bei Benutzung der von Müller empfohlenen Reagenzglasgestelle kann man auch leicht die Bälle, die sich beim Zentrifugieren am Boden der Röhrchen abgesetzt haben, übersehen oder man muß jedes einzelne Röhrchen anheben, um auch den Bodensatz untersuchen zu können.

Die von Schlesmann für die M.K.R. I angegebene Technik, bei der die Röhrchen nach dem Zentrifugieren mit der Hand aufgeschüttelt werden, bringt mit diesem Aufschütteln ein individuelles Moment in die Methodik, so daß man in der Beurteilung der Resultate sehr vorsichtig sein muß. Bei starkem Schütteln können nämlich schwach positive Reaktionen verschwinden, da die einzelnen Bröckel zertrümmert werden und sich zum Teil auflösen. Aus diesem Grunde hat Meinicke für die Z.M. der M.K.R. II einen anderen Indikator empfohlen. Meinicke dreht nach erfolgtem Zentrifugieren die Versuchsröhrchen vorsichtig um, so daß die überstehende Flüssigkeit ausläuft. Die Röhrchen werden dann mit dem Boden nach oben in Reagenzglasgestelle gestellt. Bei dieser Technik wirkt allein das Gesetz der Schwere auf die Sedimente ein; die Versuche sind daher subjektiven Einflüssen nicht unterworfen. Auch die Ablesung der Z.M. nach der Hohn'schen Methode hat sich nach den Erfahrungen des Ambrocker Instituts nicht besonders bewährt, weil es gelegentlich große Schwierigkeiten bereiten kann, schwach positive Sedimente als solche zu erkennen; auch Verunreinigungen der Sera können schon zu einem falschen Ergebnis führen.

Bei der Laubenheimer'schen Z.M. spielt für die Beurteilung der Resultate nicht das Sediment die Hauptrolle, sondern die obenstehende Flüssigkeit. Man richtet sich wie bei der Klärungsablesung der M.K.R. II nach 20 Stunden danach, ob die überstehende Flüssigkeit geklärt ist oder nicht. Hierzu macht Meinicke geltend, daß der Ausfall des Resultates ganz von der sorgfältigen Einstellung der Zentrifuge abhängig ist. Nachprüfungen des Klärungsgrades positiver und negativer Seren vermittels der Z.M. ergaben nämlich, daß positive Seren nach 10 Minuten, negative nach 10 bis 15 Minuten langem Zentrifugieren vollkommen geklärt sind. Es ist also nur eine ganz schmale Versuchsbreite vorhanden, in der Abstufungen im Klärungsgrad zu beobachten sind. Da nun bekanntlich die Zentrifugen immer kleinen Geschwindigkeitsschwankungen unterworfen sind, ist ein Gefahrenmoment gegeben, das regelmäßige und einwandfreie Resultate nicht zuläßt.

Aus allen diesen Gründen hat Meinicke (8) für die Z.M. der neuen M.K.R. II, die er 1932 veröffentlichte, einen neuen Indikator, den ich oben bereits kurz erwähnte, angegeben. Während seine früheren Luesreaktionen wie M.R., D.M., M.T.R. und die M.K.R. I nach der **Originalvorschrift** ohne Zentrifugiertechnik angesetzt wurden, ist in der neuen M.K.R. II die Z.M. bekanntlich eine unter vier Modifikationen. Die vier Möglichkeiten der Ablesung der M.K.R. II sind:

1. die Klärung,
2. die makroskopische Flockung,
3. die mikroskopische Flockung, und
4. die Zentrifugiermethode.

Der Vorzug der M.K.R. II beruht neben der Empfindlichkeit, die wohl von keiner anderen modernen Flockungsreaktion erreicht wird und der Spezifität der Resultate gerade in dieser Mannigfaltigkeit der Ablesungsindikatoren und in der einfachen technischen Ausführung der Methode.

Die Technik der M.K.R. II setze ich als bekannt voraus und gehe hier nur etwas näher auf die Z.M. ein. Bei dieser werden die Versuchsröhrchen unmittelbar nach dem Mischen von Extraktverdünnung und Serum gut durchgeschüttelt und danach sofort bei ca. 2000 Umdrehungen 10 Minuten lang zentrifugiert. Nach dem Zentrifugieren wird die obenstehende Flüssigkeit vorsichtig abgegossen und die Röhrchen mit dem Boden nach oben in Reagenzglasgestelle gestellt. Nach einer halben Stunde liest man ab. Beim Zentrifugieren hat sich in jedem Falle ein kleines, blaues, knopfförmiges Sediment gebildet. Bei negativen Seren läuft das Sediment in breiten, bläulichen Streifen an der Röhrchenwand herab. Bei positivem Ergebnis bleibt der Bodensatz kompakt zusammen; bei stark positiver Reaktion weist er außerdem einen ganz scharf begrenzten Rand auf. Bei schwächer positiven Seren verbreitert sich das Sediment, läuft vielleicht auch in einem ganz feinen Hauch etwas aus, aber nie in dem Maße wie bei einem negativen Ergebnis. Die Methode ist also mit bloßem Auge sehr leicht abzulesen.

In der Schärfe der Resultate sind die 4 Modifikationen der M.K.R. II nicht ganz gleich. Die schwächste Form ist die **Klärungsprobe.** Sie ist aber in ihrer Empfindlichkeit den modernen Flockungsreaktionen wie Kahn-Standard, Citocholreaktion und M.B.R. II mindestens gleichzustellen. Erheblich schärfere Resultate weisen die makroskopische Flokkung und die Z.M. auf, die an Leistungsfähigkeit ungefähr auf einer Stufe stehen. Die höchste Ausbeute an positiven Ergebnissen ergibt die **mikroskopische** Ablesung. Mit dieser kann man noch schärfere Resultate erzielen, wenn man nicht nur nach einer Stunde, sondern nach einer weiteren Stunde nochmals abliest. Meinicke erklärt dies folgendermaßen: „Offenbar werden durch das Bewegen der Objektträger gewisse Hemmungen leichter überwunden". Diese Tatsache macht sich noch stärker bei der Z.M. bemerkbar, wobei durch den „Akt des Zentrifugierens" noch leichter als beim Bewegen der Objektträger Hemmungen in der Reaktionskraft der Sera überwunden werden können.

Derartige Hemmungen in der Reaktionskraft der Sera kann man zunächst bei den sogenannten **überstark positiven Seren** beobachten. Das sind Seren, die vermöge ihres übergroßen Gehaltes an Luesreaginen über die optimalen Versuchsbedingungen der Standardmethode hinausragen und daher fälschlicherweise negativ reagieren. Bei der Wa.R. und der M.B.R. II erzielt man mit solchen überstarken Seren immer stark positive Resultate. In der Kahn'schen Probe dagegen machen sich überstarke Sera durch sogenannte **falsche Skalen** bemerkbar. Das Gleiche gilt für die Klärungs- und Flockungs-Ablesung der M.K.R. II. Im Gegensatz hierzu ist die Z.M. der M.K.R. II durch das Ueberwinden der Hemmungen im Serum befähigt, überstarke Sera auch in der **ersten** Versuchsreihe in die Reaktionsbreite zurückzubringen und diese Fälle als stark positiv zu erfassen

Außer bei den überstark positiven Seren ist die Z.M. insbesondere bei **längere Zeit aufbewahrten** schwach positiven Seren, die durch das lange Lagern an Reaktionskraft eingebüßt haben, den übrigen Methoden überlegen. Bei gelagerten Seren werden die verschiedenen Luesreaktionen mit Ausnahme der Z.M. der M.K.R. II vielfach im Laufe der Zeit negativ. Setzt man daher mit einem schwach positivem Serum, das längere Zeit im Eisschrank aufbewahrt wurde, neue Versuche mit den Flockungsformen der M.K.R. II und anderen Luesreaktionen an, so ist eine deutliche Abschwächung der Ergebnisse gegenüber vorher bis zum Negativwerden zu verzeichnen. Dagegen bekommt man mit Hilfe der Zentrifugiermethode der M.K.R. II fast immer ebenso starke Resultate wie vorher mit dem frischen Serum.

Bringt somit die Z.M. bei überstark positiven und lange gelagerten Sera eine **Verstärkung** des Reaktionsergebnisses, so ist außerdem auch in allen Fällen eine **Beschleunigung der Reaktion,** eine Abkürzung der Versuchsdauer gegenüber der Klärungsprobe und der makroskopischen Flockung vorhanden. Diese Abkürzung der Versuchsdauer hat keinen abschwächenden Einfluß auf das Versuchsergebnis. Offenbar tritt bereits in dem Augenblick der Mischung von M.K.R.-Extrakt und Serum eine **momentane Reaktion** zwischen den Lipoiden des Extraktes und den Luesreaginen des Serums ein. In Uebereinstimmung hiermit steht die Beobachtung, daß man auch sofort nach dem Mischen von Kahn-Extrakt und Serum die Flockung ablesen kann. Wohl bei allen Luesmethoden läuft die Reaktion als solche momentan ab.

Man könnte nun denken, daß bei einer **Kombination von längerer Versuchsdauer und Zentrifugieren** das Resultat noch schärfer wird als beim Zentrifugieren sofort nach dem Mischen von Extraktverdünnung und Serum. Gerade das Umgekehrte aber ist der Fall. Wenn man bei der M.K.R. II nach der Mischung von Extrakt und Serum längere Zeit zuwartet und erst dann zentrifugiert, so schwächen sich die Ergebnisse

deutlich ab. Es kommt also darauf an, die Reaktion gewissermaßen in statu nascendi zu zentrifugieren.

Nur gegenüber der mikroskopischen Ablesung ist die Beschleunigung der M.K.R. II durch Zentrifugieren wohl illusorisch. Die mikroskopische Reaktion ist eine Stunde nach dem Ansetzen der Versuche ablesbar. Rechnet man bei der Z.M. 10 Minuten Zentrifugieren, 5 Minuten Auslaufen der Zentrifuge, Abgießen und Umstellen in Reagenzglasgestelle, dann eine halbe Stunde Stehenlassen, so kommt man ungefähr doch auf eine Stunde wie bei der mikroskopischen Ablesung.

Die Mikro-Reaktion hat gegenüber der Z.M. aber den Vorteil, daß sie viel **spezifischer** ist. Eben weil Hemmungen in der Reaktionskraft der Sera durch das Zentrifugieren leichter überwunden werden, schlägt die Z.M. auch öfters unspezifisch positiv aus. Das kommt in erster Linie bei Seren, die ikterisch, hämolytisch, bakteriell zersetzt oder irgendwie verunreinigt sind, vor. Auch bei aktiv Tuberkulösen beobachtet man solche Unspezifitäten, wie sie z. B. Dünner und Mayer (9) für alle Luesreaktionen beschrieben haben. Aus neueren Untersuchungen von Meinicke geht aber eindeutig hervor, daß der positive Ausschlag bei Tuberkulösen in den Luesreaktionen nicht auf eine sogenannte Labilität der Sera zurückzuführen ist, sondern daß in diesem Fall die Tbc.-Antigene in solch starkem Ausmaß vorhanden sind, daß sie mit den Herzlipoiden der Luesextrakte mitreagieren. Es sind also einerseits **labile** Sera, die in der Z.M. leicht zu Unspezifitäten führen können, andererseits erfolgt ein „Mitreagieren“ bei Seren von andersartigen Krankheiten im Sinne einer **übergreifenden Immunreaktion** beim Vorhandensein sehr reichlicher Antikörper im Serum.

A. Versuche mit der Z.M. als Luesreaktion.

Es war nun das erste Ziel der vorliegenden Arbeit, zu untersuchen, ob man durch Aenderungen der Technik diese unspezifischen Ausschläge der Z.M. der M.K.R. II irgendwie zum Verschwinden bringen kann. In einer Arbeit von Dombrowsky (10) wird angegeben, daß man sich durch genaues Beachten von Umdrehungsgeschwindigkeit und Umdrehungszeit beim Zentrifugieren sichere Versuchsbedingungen schaffen kann. In Anlehnung an diese Arbeit versuchte ich, durch geeignetes Einstellen der Zentrifuge mir ein Optimum an Spezifität der Reaktion herzustellen. Gleichzeitig mußten aber die Versuchsbedingungen noch so günstig bleiben, daß die Methode an Schärfe den anderen Luesreaktionen der M.K.R. II in nichts nachgab.

Ich untersuchte rund 600 Seren mit der Z.M. bei 3 verschiedenen Tourenzahlen und wechselnden Umlaufzeiten. Zum Vergleich wurde nebenher die Wa.R., die mikroskopische und die makroskopische Flokkung, die Klärungsprobe der M.K.R. II und die Kahn'sche Standardmethode angesetzt. Zu diesen Versuchen stand mir eine große Zentrifuge der Firma Ernst Stock, Marburg, Modell W. 2, Fabriknummer 1610 B, zur Verfügung. Dieses Modell braucht nach dem Einschalten mindestens 1 Minute, um auf die vorgeschriebene Geschwindigkeit zu kommen und läuft 4 Minuten aus bis zum Stillstehen. 32 Blutproben können zu gleicher Zeit zentrifugiert werden.

Zuerst versuchte ich mit **niedriger Tourenzahl** zu zentrifugieren, wie es auch Dombrowsky getan hatte. Dabei ergab sich, daß man bei ca. 1500 Umdrehungen in der Minute mit kurzen Zeiten, wie 3 und 5 Minuten, kein gutes Ergebnis hatte. **Schwach positive** Sera reagierten vielfach negativ. Offenbar reichte hier die Zeit und Geschwindigkeit nicht aus, um alle fein-dispersen Teilchen der Reaktionsflüssigkeit im Sediment so fest zu vereinigen, daß sie auch im positiven Fall nach dem Umdrehen der Röhrchen nicht an der Röhrchenwand herunterflossen, sondern kompakt zusammen blieben. Ich mußte also die Zentrifugalkraft länger einwirken lassen. Bei 10 Minuten langem Zentrifugieren war zwar ein klarer Unterschied zwischen positiven und negativen Seren vorhanden, aber es wurden bereits verschiedene unspezifisch positive Ausschläge beobachtet. Längeres Zentrifugieren bis zu ungefähr einer halben Stunde brachte erwartungsgemäß keine Veränderungen im Verhalten der Unspezifitäten. Zwischen 5 und 10 Minuten Zentrifugieren lag wohl eine Zone, in der mehrere unspezifisch positive Sera negativ wurden; aber schwach positive Seren, die zur Kontrolle mitliefen, kamen dann auch schon nicht mehr regelmäßig positiv heraus, sondern reagierten negativ.

Im Gegensatz zu den Ergebnissen von Dombrowsky kam ich also mit dem von mir benutzten Zentrifugenmodell bei 1500 Touren in der Minute weder bei kurzer noch bei längerer Umlaufzeit zu einem voll befriedigenden Ergebnis. Das hat seinen Grund wohl in der langen Anlauf- und Auslaufzeit der großen Stock'schen Zentrifuge. Dombrowsky benutzte bei seinen Versuchen das übliche mittelgroße Laboratoriumsmodell.

Mit der großen Stock'schen Zentrifuge machte ich nun weitere Versuche mit **hoher Umlaufgeschwindigkeit,** da es möglich erschien, daß sich dieses große Modell besser für hohe Tourenzahlen eignete. Ich zentrifugierte bei ca. 2200 Umdrehungen in der Minute. Zuerst begann ich wieder mit kurzen Umlaufzeiten. 2 Minuten Zentrifugieren erwies sich als zu kurz, wie es analog bei 1500 Umdrehungen bis zu 5 Minuten der Fall gewesen war. Zeiten von 5 bis 10 Minuten Zentrifugieren waren schon wieder zu lang; die unspezifisch reagierenden Sera blieben dabei positiv. 10 Minuten und längeres Zentrifugieren bis zu einer halben Stunde brachte erwartungsgemäß auch keine Aenderung. Nun galt es, bei Zeiten zwischen 2 und 5 Minuten eine Reaktionsbreite zu finden, die dem oben gesetzten Ziele entsprach. Dies gelang tatsächlich bei einer Zentrifugierdauer von 3 Minuten und 2200 Umdrehungen in der Minute. Fast alle unspezifisch positiven Sera reagierten bei dieser Versuchsanordnung übereinstimmend glatt negativ. Gleichzeitig ließ ich als Kontrolle zahlreiche stark und schwach positive Seren mitlaufen und erhielt mit ihnen durchaus richtige, genügend scharfe Ergebnisse. In der Folge setzte ich umfangreiche Versuche immer unter denselben Bedingungen an und erzielte ganz regelmäßig dieselben Resultate, so daß Fehler technischer Art sicher ausgeschlossen werden dürfen, soweit man bei biologischen Reaktionen überhaupt alle Gefahrenquellen vollkommen ausschließen kann. Der Versuch bei 2200 Umdrehungen und 3 Minuten Laufzeit bildet also das Optimum an Spezifität, Schärfe und Reaktionsbreite.

Allerdings ist dies zunächst nur für das von mir verwandte Zentrifugenmodell der Fall. Versuche, die ich bei ca. 1800 Umdrehungen und Zeiten von 3 bis zu 30 Minuten anstellte, brachten nicht den gewünschten Erfolg. Es zeigten sich wieder die unzuverlässigen Ergebnisse, wie ich sie oben bei den Versuchen mit 1500 Umdrehungen geschildert habe.

Für die Stock'sche Zentrifuge gelang es also, ein Optimum der Versuchsbedingungen herauszuarbeiten. Es ist natürlich nicht möglich, diese Tatsache zu verallgemeinern und für alle Zentrifugenmodelle die These aufzustellen: das Optimum liegt bei 2200 Umdrehungen und 3 Minuten Zentrifugierdauer! Vielmehr muß man sich in besonderen

Versuchen für jede einzelne Zentrifuge die günstigsten Bedingungen erst herauszuarbeiten suchen, eine Forderung, die auch Dombrowsky bereits aufgestellt hat. Denn die Zentrifugenmodelle sind alle so verschieden in ihrer Anlaufs- und Auslaufszeit, daß man bei jedem Modell zu anderen Ergebnissen kommt. Ich machte daher noch Versuche mit einer kleineren Zentrifuge (Firma P. Altmann, Berlin, Ecco-Superior, Fabriknummer 52525 A). Ich setzte die Versuche in der gleichen Reihenfolge an wie mit der großen Zentrifuge. Es stellte sich dabei heraus, daß Umdrehungsgeschwindigkeiten von 2200 und 1800 Umdrehungen zu hoch waren. Bei 1500 Touren in der Minute erwies sich 7 Minuten Laufzeit als am günstigsten. Ich bekam also bei der kleinen Zentrifuge ein Optimum bei 1500 Umdrehungen und 7 Minuten Laufzeit und befinde mich im Gegensatz zu den Erfahrungen mit der großen Zentrifuge bei dem kleinen Modell in Uebereinstimmung mit den Ergebnissen Dombrowsky's.

Zur Erläuterung des Gesagten möchte ich aus zahlreichen Parallelversuchen einige typische Beispiele in Tabellenform anführen. (Siehe Tabelle 1, Seite 12/13.)

Tabelle 1.

Fall Nr. 1. Institutsnummer 3566. Klinische Diagnose: Lungentuberkulose. Lues weder klinisch noch anamnestisch feststellbar.

Fall Nr. 2. Institutsnummer P. 606. Klinische Diagnose: Asthma bronchiale. Für Lues sprechen keine Zeichen.

Fall Nr. 3. Institutsnummer P. 540. Klin. Diagnose: 1924 Lues. Mehrere Kuren. Ausgeheilt.

Fall Nr. 4. Institutsnummer 3430. Klinische Diagnose: Beginnende Paralyse.

Große Zentrifuge.

L. Nr.	1500 ½ Stunde	1500 10 Min.	1500 5 Min.	1500 3 Min.	2200 ½ Stde
3566	++++	++	++	±	+++
P. 606	++++	+++	+	—	+++
P. 540	+++	++	±	—	+++
3440	++	—(±)	—	—	++/+

Kleine Zentrifuge.

L. Nr.	1500 ½ Std.	1500 10 Min.	1500 8 Min.	1500 7 Min.	
3566	++++	++	±	—	
P. 606	++++	++	—(±)	—	
P. 540	++	++	++	++	
3411	+++	+++	++	++	

2200 15 Min.	2200 10 Min.	2200 5 Min.	2200 3 Min.	
+++	++	++	—	Lungentbc.
++/++++	++	±	—	Asthma br.
++	++	++	++	Klin. Kur. 24
++	++	++	++	Beginnende Paralyse

2000 ½ Std.	2000 15 Min.	2000 7 Min.	2000 4 Min.	2000 3 Min.
+++	+++/++++	+++	++	±
+++	+++/++++	++	+	—
++	++	++	++	±
++	+++	++	+	±

Man sieht an Hand der Tabelle deutlich, daß bei Benutzung der **großen Zentrifuge** die zu Unspezifitäten neigenden Sera bei 2200 Touren und 3 Minuten Umlaufzeit glatt negativ reagieren. Je länger man zentrifugiert, um so stärker wird der unspezifisch positive Ausschlag. Auf der anderen Tabelle findet man für die **kleine Zentrifuge** das Optimum bei 1500 Umdrehungen und 7 Minuten Laufzeit angegeben. Zentrifugiert man länger, dann erhält man wieder falsche positive Resultate.

Es gelang mir in meinen Versuchen fast ausnahmslos, alle unspezifisch positiven Ausschläge der Z.M. durch Arbeiten in den angegebenen Reaktionsbreiten zum Verschwinden zu bringen. Nur in einigen Fällen war das nicht regelmäßig möglich. Als Grund dafür müssen Schwankungen im Stromnetz während des Zentrifugierens selbst angenommen werden. Das ist sehr häufig der Fall, wenn die Zentrifuge ihren Strom aus einem kleinen Stromkreis bezieht, an den Röntgenapparat, Aufzug und technische Maschinen angeschlossen sind. Diese Schwankungen kann man an der Zentrifuge leicht mit dem Geschwindigkeitsmesser registrieren. Wenn man weiß, wie fein und genau die Zentrifuge eingestellt werden muß, um optimal für die Z.M. der M.K.R. II zu arbeiten, dann versteht man auch, daß schon geringe Schwankungen im Stromnetz große Folgen im Ausfall der Reaktion nach sich ziehen können. Durch meine Untersuchungen wurde daher die Auffassung Meinicke's unterstützt, der die Z.M. der M.K.R. II als Luesreaktion wegen einiger unvermeidbarer Unspezifitäten nur als orientierende Presumptive-Methode aufgefaßt wissen will. Als solche aber gibt sie wertvolle Resultate speziell bei überstark positiven und längere Zeit aufbewahrten Seren und bei einigen besonderen klinischen Bildern der Syphilis, wie z. B. kongenitaler Lues und Lues III.

B. Versuche mit der Z.M. und Mikroprobe als Immunitätsreaktionen bei Gonorrhoe und Abortus Bang.

Das Hauptanwendungsgebiet der Z.M. sind die M.K.R. II-**Immunitätsreaktionen** auf Gonorrhoe, Abortus Bang und Tuberkulose. Ueber die Meinicke'sche Reaktion auf Gonorrhoe und Abortus Bang liegen schon bestätigende Nachprüfungen von anderer Seite vor; über seine Untersuchungen auf Tuberkulose berichtete Meinicke vorläufig in Münster in der Sitzung der Medizin. Naturw. Gesellschaft vom 10. 7. 33 und veröffentlichte jetzt kürzlich einige praktische Erfahrungen (11 und 46).

Die Technik der Immunitätsreaktion ist im Prinzip die gleiche, wie sie oben für die M.K.R. II auf Lues angegeben wurde. Bei der Reaktion auf Abortus Bang und Gonorrhoe arbeitet man mit 2 Serien. Man setzt in der ersten Serie der Kochsalzlösung, die für die Extraktverdünnung benutzt wird, dem Titer entsprechende Mengen des betreffenden **spezifischen Bakterienantigens** zu, also bei Untersuchungen auf Gonorrhoe ein Gonokokkenantigen, bei solchen auf Abortus Bang ein Bangantigen. Als Extrakt wird der M.K.R. II-Extrakt verwendet. Das zweite Röhrchen wird nur mit dem Standardextrakt und Kochsalzlösung **ohne** spezifisches Antigen angesetzt, damit man bei negativer Reaktion in diesem Röhrchen die Gewähr hat, daß eine positive Reaktion im Antigenröhrchen spezifisch ist. So ist in den Immunitätsreaktionen in der Methode selbst durch das Kontrollröhrchen ein Sicherheitsfaktor gegeben, den wir in der Z.M. als Luesreaktion erst in mühsamen Versuchen selbst auffinden mußten. Das Mischen, Einpipettieren und Ablesen der Immunitätsreaktion erfolgt wie bei der Luesprobe.

Bei der Luesreaktion erwies sich, wie schon oben ausgeführt wurde, die **mikroskopische** Ablesung als die schärfste der verschiedenen Formen der M.K.R. II. Aus diesem Grunde versuchte Meinicke zunächst, diese Technik als die wahrscheinlich empfindlichste für die Immunitätsreaktionen auf Abortus Bang und Gonorrhoe zu benützen. Aber hier zeigte sich gleich die auffallende Tatsache, daß in diesem Immunitätsreaktionen gerade das Umgekehrte der Fall war wie bei der Lues.

Die mikroskopische Methodik war bei weitem zu schwach. Sicher positive Abortus Bang- und Gonorrhoe-Seren reagierten in der Mikro-Ablesung nach einer Stunde glatt negativ. Ließ man die Objektträger mit den Reaktionstropfen länger in der feuchten Kammer liegen und beobachtete noch einmal nach 2 Stunden, so war das Resultat ebenfalls meist noch negativ. Erst nach 6 Stunden änderte sich bei **einigen** Fällen das Bild, um nach 24 Stunden bei diesen das Maximum der Flockung zu erreichen. Andere Fälle reagierten auch noch nach dieser Zeit glatt

negativ. Die Flocken einer positiven Reaktion waren meist nur klein und standen verhältnismäßig dicht beieinander. Die schönen eindeutigen Bilder einer positiven Lues-Mikroprobe wurden vermißt. Aus dieser Beobachtung muß man schließen, daß die Mikroreaktion im allgemeinen zu schwach ist und von sich aus erst verhältnismäßig langsam in Gang kommt, im Gegensatz zur Reaktion auf Lues, wo auch ohne unterstützendes Zentrifugieren bei stark positiven Seren schon wenige Minuten nach dem Mischen von Extraktverdünnung und Serum eine deutliche mikroskopische Flockung auftritt.

Es wurde nun versucht, dies unbefriedigende Ergebnis der mikroskopischen Ablesung zu verbessern. Schon wenn man die Objektträger in der Zwischenzeit mehrfach hin und her bewegte, erzielte man etwas schärfere Resultate. Sodann wurde versucht, die Röhrchen gleich nach dem Mischen von Extraktverdünnung und Serum kurze Zeit im Schüttelapparat wie die Kahn'sche Reaktion zu schütteln, um das „In-Gang-kommen" der Reaktion zu unterstützen. Allein diese Versuche gaben ebenfalls nicht wesentlich bessere Resultate. Auch das Ablesen nach 24 Stunden befriedigte nicht, da ein so spätes Ablesen einmal umständlich ist und zweitens sehr zu unspezifischen Ausschlägen neigt; auch ist die Ablesung nach so langer Zeit schwierig. Deshalb gab Meinicke die Versuche mit der Mikroreaktion bei seinen Untersuchungen auf Abortus Bang und Gonorrhoe auf. Die makroskopische Ablesung und die Klärungsprobe kamen erst recht nicht in Betracht, weil sie noch schwächere Resultate als die Mikroreaktion gaben.

Die Erfahrung, daß man bei der Mikroprobe die Objektträger hin- und herbewegen muß, um bessere Resultate zu erzielen, führte bald zu dem Versuch, die Reaktionsröhrchen zu **zentrifugieren.** Es besteht in physikalischer Hinsicht ein großer Unterschied zwischen dem Schütteln und Zentrifugieren. Beim Schütteln werden die kleinen Teilchen der Reaktionsflüssigkeit wohl gut hin und her bewegt, und schlagen lebhaft aneinander, aber es ist kein steter, fortschreitender Vorgang wie beim Zentrifugieren, sondern die miteinander reagierenden Teilchen werden immer wieder auseinander gerissen. Dagegen erfolgt beim Zentrifugieren keine regellose Durcheinanderbewegung, sondern eine Bewegung in **einer** Richtung entsprechend der Zentrifugalkraft. Alle Teilchen werden nach dem Boden des Röhrchens hingeschleudert, reißen auf dem Wege dorthin andere mit und konzentrieren sich in einem knopfförmigen Sediment.

Es zeigte sich schon bei meinen ersten Versuchen, die ich zur Nachprüfung früherer Erfahrungen von Meinicke ausführte, und wurde seitdem immer wieder von mir bestätigt, daß die Z.M. der M.K.R. II in den **Immunitätsreaktionen** auf Abortus Bang und Gonorrhoe tatsächlich der Mikroreaktion weit überlegen ist, im krassen Gegensatz zur

Luesreaktion, wo gerade die Mikroprobe, die Z.M. im allgemeinen an Empfindlichkeit überragt. Die Tabelle, die eine kleine Auswahl aus meinen Versuchen enthält, veranschaulicht dies ohne weiteres.

Abortus Bang.

L. Nr.	Zentrifuge mit Antigen	Kontrolle	Mikro 1 Stunde Antigen	Kontrolle	2 Stunden Antigen	Kontrolle
205	++++	—	—	—	++	++
246	++++	—	—	—	+/++	—
259	++++	—	—	—	±	—
276	+	—	—	—	—	—

Gonorrhoe.

L. Nr.	Zentrifuge mit Antigen	Kontrolle	Mikro 1 Stunde Antigen	Kontrolle	2 Stunden Antigen	Kontrolle
520	++++	—	±	—	+	—
522	++++	—	±	—	+	—
538	+++	—	—	—	±	—
540	++	—	—	—	—	—

Lues.

L. Nr.	Zentrifuge	Mikro 1 Stunde	2 Stunden	Klin. Befund
9306	±	++	+++	Klin +
9246	±	±	++/+++	Klin +
8775	±	++++	++++	Klin +
9686	—	±	++/+++	Klin +
6166	—	+/++	+++	Klin +
6304	±	++/+++	+++	Kur vor 2 Jahren
6941	±	++++	++++	Klin +
7496	±	++	+++	Klin +

C. Versuche mit der Z.M. und mit der Mikroprobe als Immunitätsreaktion bei Tuberkulose.

Bei der Meinicke'schen Immunitätsreaktion auf **Tuberkulose** liegen die Dinge anscheinend etwas anders. Zu Beginn seiner Untersuchungen arbeitete Meinicke wie vor ihm schon Nagell (12) mit dem Standard-Extrakt für die M.K.R. II und setzte der zum Extraktverdünnen benutzten Kochsalzlösung das Tuberkelbazillen-Antigen von Witebsky, Klingenstein und Kuhn zu. Wie bei der Gonorrhoe und Abortus Bang wurden zunächst alle vier Ablesungsindikatoren der M.K.R. II ausprobiert. Dabei kam Meinicke zu den gleichen Ergebnissen wie dort. Auch bei Tuberkulose erwiesen sich die makroskopische Flockenablesung und die Klärungsprobe als viel zu schwach, um als Indikator der Reaktion dienen zu können. Auch die Mikroreaktion war der Z.M. noch weit unterlegen. Vor allem gab diese schwer zu beurteilende Bilder. Die einzelnen Flocken und Körner waren von ganz verschiedener Größe. Im positiven Fall war der Zwischenraum zwischen den einzelnen Flocken nicht frei, sondern auch noch gekörnt. Die Erkennung schwach positiver Reaktionen war fast unmöglich.

Meinicke versuchte daher, aus Tuberkelbazillen **konzentrierte alkoholische** Extrakte herzustellen und schwächte diese dann stufenweise durch Mischen mit Standard-Extrakt ab. Auch stellte er sich **wasserlösliche** Extrakte aus Tuberkelbazillen her, da das Arbeiten mit dem Witebsky'schen Antigen für Flockungsversuche Schwierigkeiten bot. Die nach dem Verdunsten des Benzols vorschriftsmäßig hergestellte Verdünnung des Witebsky'schen Antigens in Kochsalzlösung ist nicht homogen, sondern schon von sich aus mehr oder weniger stark geflockt und eignet sich daher schlecht für Flockungsversuche. Meinicke kam schließlich zu folgender Technik bei seinen Tuberkuloseversuchen: Es wird mit vier Röhrchen gearbeitet, von denen das letzte als Kontrollröhrchen dient und mit der Verdünnung des Standardextraktes angesetzt wird. In das erste Röhrchen kommt die Verdünnung eines an Tuberkelbazillenstoffen reichen Extraktes und außerdem wird der Kochsalzlösung noch wäßriges Tuberkelbazillenantigen zugefügt. Dies Röhrchen gibt die stärksten Ausschläge. In das zweite Röhrchen kommt die Verdünnung des gleichen Antigens, der Kochsalzlösung wird aber kein wäßriges Antigen zugesetzt. Das dritte Röhrchen wird mit einer Extraktverdünnung von niedrigerem Tuberkelbazillengehalt beschickt. Die Reaktion wird also dreifach quantitativ abgestuft.

Die alkohollöslichen und wasserlöslichen Tuberkelbazillenantigene hat Meinicke im Laufe der Zeit wesentlich verbessern können. Die

zuletzt hergestellten, erheblich leistungsfähigeren als die früheren, übergab er mir, um mit ihnen vergleichende Versuche zwischen den einzelnen Ablesungsmethoden der M.K.R. II anzustellen. Meine Versuche ergaben, daß ebenso wie bei Gonorrhoe und Abortus Bang die **Klärungsprobe** und die **makroskopische Ablesung** der M.K.R. II auch bei Tuberkulose zu schwache und zu unsichere Resultate geben, um als Methode der Wahl in Frage kommen zu können. Die Vergleiche zwischen der mikroskopischen Ablesung und der Z.M. gaben jedoch jetzt andere Resultate als sie früher bei Gonorrhoe und Abortus Bang und auch mit den alten Extrakten bei Tuberkulose erzielt werden konnten.

Zwar blieb auch mit den neuen verbesserten Extrakten noch ein wesentlicher zeitlicher Unterschied zwischen der Mikroreaktion und der Z.M. bestehen. Mit der Z.M. erzielt man mit positivem Tuberkuloseserum sofort ein eindeutiges positives Resultat. Bei der mikroskopischen Ablesung nach einer Stunde reagierten aber dieselben Sera fast immer noch glatt negativ. Dann kommt die Flockung langsam in Gang. Die Ablesung nach 2 bis 3 Stunden bringt schon einige schwach positive Reaktionen bei stark positiven Seren heraus. Aber erst bei der mikroskopischen Ablesung nach 6—8 Stunden scheint der Vorgang der Flockung abgeschlossen zu sein. Nach dieser Zeit erhielt ich meist bei stark positiven Seren eindeutige, stark positive und auch bei schwach positiven Seren noch deutlich positive Ergebnisse. Im Gegensatz zu den Gonorrhoe- und Abortus Bang-Versuchen glichen die mikroskopischen Bilder selbst denen bei Lues, waren also einwandfrei zu beurteilen. Man bekommt aber nicht ganz regelmäßig so schöne klare Bilder wie bei der zu schwachen 3-Stunden-Ablesung. Am Rande der Tropfen konfluieren manchmal nach 6—8 Stunden einige Körner zu kleinen Flocken, die bei der Beurteilung zu unspezifischen Ablesungen Anlaß geben können. Auch wird die Kontrolle gelegentlich etwas ausgeflockt. Die Tabelle zeigt eine Auswahl der verschiedensten Reaktionstypen, wie ich sie in Versuchen an rund 300 Seren immer wieder beobachten konnte.

L. Nr.	Zentrifuge 1	2	3	4	Mi 1 Std. 1	2	3
3864	++++	++++	++++	—	—	±	++
3223	++++	++++	+++	—	+	—	—
3509	+++	++++	+++	—	++	+++	+++
3071	++++	++++	++++	—	—	—	—
3066	+++	+	—	—	—	—	—
2874	++++	++++	±	—	+	—	—
2575	++++	+++	—	—	±	—	—
3068	++++	++++	—	—	—	—	—
3481	++++	±	—	—	—	—	—
3635	++++	±	—	—	—	—	—
3582	++++	±	—	—	—	—	—
3656	++++	±	—	—	++++	—	—
3621	+/++	—	—	—	—	—	—
3368	++	±	—	—	—	—	—
2974	++	—	—	—	—	—	—
3085	++	—	—	—	—	—	—

Um den Ablauf der Mikroreaktion zu beschleunigen, machte ich in Anlehnung an frühere Untersuchungen mit der Immunitäts-M.K.R. II wieder Versuche mit dem **Schüttelapparat.** Nach dem Mischen von Extraktverdünnung und Serum wurden die Röhrchen in dem Schüttelapparat 3 Minuten bzw. 6 Minuten geschüttelt; dann entnahm ich ihnen Tropfen, ließ die Präparate in der feuchten Kammer eine, 3 und 6 Stunden liegen und las dann unter dem Mikroskop ab. Dabei zeigte sich, daß dieselben Sera in einem Parallelversuch ohne Schütteln eher bessere Resultate zeitigten als die im Schüttelversuch. Das Schütteln im Apparat war offenbar eine zu starke Bewegung, die die Reaktion nicht zur Ruhe kommen ließ.

In neuen Versuchen wurden die Objektträger mit der Hand nur sanft hin und her bewegt: ein Erfolg blieb ebenfalls aus. Einen dritten Versuch machte ich und legte die Objektträger auf eine vibrierende Unterlage so, daß sie in leicht zitternder Bewegung gehalten wurden. Zu diesem Zwecke stellte ich die feuchte Kammer mit den Objektträgern

	Mi 2—3 Std.				Mi 6—8 Std.		
1	2	3	4	1	2	3	4
±	++	++++	—	++++	++++	++++	—
+++	±	±	—	++++	++++	++++	—
++	++++	++++	—	++++	++++	++++	++++
—	+	+	—	++++	++++	++++	—
++	—	—	—	++++	++++	—	—
+++	±	—	—	++++	+++	—	—
++	±	—	—	++++	+++	—	—
±	—	—	—	+++	++++	—	—
+	—	—	—	++++	++	—	—
—	—	—	—	++	—	—	—
±	—	—	—	++++	++	—	—
+++	+	—	—	++++	+++	±	+/++
—	—	—	—	+	—	—	—
—	—	—	—	++	—	—	—
—	—	—	—	+++	—	—	—
—	—	—	—	++/+++	—	—	—

auf den massiven Rahmen des Schüttelapparates. Dieser gerät beim Schütteln in gleichmäßig leichte Vibrationen. Alle diese Versuche, durch verschiedenartiges Bewegen der Objektträger die Reaktionsdauer wesentlich herabzusetzen, blieben ohne einen Erfolg. Die besten und klarsten Bilder erhielt ich immer, wenn ich die Objektträger 6—8 Stunden lang ruhig bei Zimmertemperatur liegen ließ und dann die Ablesung vornahm. Die mit dieser Methode erzielten Reaktionstypen sind in Tabelle 3 verzeichnet. Nach den Ergebnissen dieser besteht anscheinend die Möglichkeit, die Z.M. einst bei den Tuberkuloseversuchen durch die Mikroreaktion zu ersetzen. Das wird eine große praktische Bedeutung haben. Dann, wenn man serologische Reihenuntersuchungen auf Tuberkulose vornehmen will, ist man nur mit einem großen Zentrifugenmodell, in dem viele Reaktionen gleichzeitig zentrifugiert werden können, in der Lage, schnell und einwandfrei zu arbeiten. Erfahrungsgemäß sind aber in den Heilstätten und Sanatorien große Zentrifugen in der Regel nicht vorhanden. Deshalb würde es ein Vorzug sein, wenn

man später in der Mikroreaktion einen vollwertigen Ersatz hätte, da man für diese kein großes technisches Instrumentarium benötigt. Ein weiterer Vorteil würde darin bestehen, daß man mit kleinen Blutmengen Untersuchungen anstellen und sich dann der von Meinicke beschriebenen Oesentechnik bedienen könnte. So wird man in der Lage sein, den Krankheitsablauf der Tuberkulose an ein- und demselben Patienten mit sehr häufigen Blutproben kontrollieren zu können. Die Mikro-Technik läßt die weitere Möglichkeit zu, in großem Ausmaße Massenuntersuchungen auch bei Kindern vorzunehmen, um aktiv Tuberkulöse herauszufinden. Man kann mit Hilfe der häufigen Blutuntersuchung auch Erfahrungen über das Kommen und Gehen der Reaktion bei den verschiedenen Formen der Tuberkulose sammeln.

Die im Vergleich zu den früheren Immunitätsuntersuchungen jetzt gesteigerte Leistungsfähigkeit der Mikromethode ist offenbar auf die Kombination von alkohollöslichen Tuberkelbazillenstoffen im Standard-Extrakt mit gleichzeitiger Zugabe wasserlöslicher zu der Kochsalzlösung zurückzuführen. Diese Kombination hat die Tuberkulose-Diagnostik mit der M.K.R. II auf eine neue Basis gestellt.

Literatur.

1. Gaethgens: Münch. Med. Wchschr. 1906, S. 1351.
2. Jakobsthal: Münch. Med. Wchschr. 1910, S. 689.
3. Gaethgens: Münch. Med. Wchschr. 1919, S. 933.
4. Meyer, K.: Med. Kl. 1919, S. 262.
5. Bruck: Klin. Wchschr. 1921, S. 1194.
6. Müller: Wien. Klin. Wchschr. 1927, Nr. 22, S. 737.
7. Schlesmann: Ztrbl. f. Bakt., 1. Abt. O, 1932, Bd. 124, S. 384.
8. Hohn: Münch. Med. Wchschr. 1929, Bd. 15, S. 624.
9. Meinicke: Münch. Med. Wchschr. 1922, Nr. 10, S. 375.
10. Dünner u. Meier: Med. Kl. 1933, Nr. 23, S. 773.
11. Dombrowsky: Med. Ges. Gießen, ref. in Münch. Med. Wchschr. 1933, S. 948.
12. Meinicke: Med. Nat. Ges. Münster, ref. in Med. Kl. 1933, Nr. 32, S. 1097.
13. Nagell: Klin. Wchschr. 1933, Nr. 27, S. 1048.
14. Schlesmann: Ztschr. f. Immunitätsforsch. 1930, Bd. 65, S. 524.
15. Meinicke: Ztrbl. f. Bakt., 1. Abt. Orig., 1932, Bd. 125, S. 356.
16. Schlesmann: Aerztl. Verein Hmbg., Sitz. 24. 5. 1932, ref. in dermat. Ztschr. 1932, Bd. 64, S. 311.
17. Boas u. Oigaard: 8. Sitz. d. Nordd. Derm. Vereins 2.—4. 6. 1932. Ztrbl. f. Hyg. u. Geschlechtskrankh. 1932, Bd. 42, S. 297/8.
18. Meinicke: Vereingg. f. Mikro-Biol. v. 21.—23. 9. 1932 i. Gießen. Ztrbl. f. Bakt. 1932, Bd. 127, S. 187.
19. Blumenthal, Elkeles, Sachs, Sütterlin: Diskuss. z. Vortr. v. Meinicke, Ztrbl. f. Bakt. 1932, Bd. 127, S. 200.
20. Bernstein: Dt. Med. Wchschr. 1933, Nr. 1, S. 10.
21. Meinicke: Ann. de L'Inst. Pasteur, 1932, Dez., S. 753.
22. Meinicke: Münch. Med. Wchschr. 1932, Nr. 10, S. 375.

23. Meinicke: Münch. Med. Wchschr. 1929, S. 1965.
24. Bruck u. Behrmann: Derm. Ztschr. 1931, Bd. 61, S. 7.
25. Vohwinkel: Med. Kl. 1933, Nr. 13, S. 428.
26. Otto u. Blumenthal: Ergebn. Hyg. 1932, Bd. 13, S. 686 bis 714.
27. Meinicke: Med. Ges. Gießen 21. 2. 33, ref. in Münch. Med. Wchschr. 1933, S. 948.
28. Dombrowsky: Dt. Med. Wchschr. 1933, Nr. 33, S. 1283.
29. Dahr: Münch. Med. Wchschr. 1933, Nr. 48, S. 1889.
30. Meinicke: Münch. Med. Wchschr. 1934, Nr. 3, S. 100.
31. Dahr: Dt. Med. Wchschr. 1934, Nr. 3, S. 94.
32. Weichherz: Dermat. Wchschr. 1934, Nr. 9, S. 274.
33. Meinicke: Dt. Med. Wchschr. 1934, Nr. 16, S. 613.
34. Meinicke: Klin. Wchschr. 1931, Nr. 38, S. 1757.
35. Bruck u. Behrmann: Klin. Wchschr. 1932, Nr. 29, S. 1230.
36. Schlesmann: Klin. Wchschr. 1932, Nr. 41, S. 1711.
37. Marquardt: Dermat. Wchschr. 1932, Bd. 95, S. 1797.
38. Schlesmann: Dermat. Wchschr. 1933, Nr. 23, S. 791.
39. Nagell: Klin. Wchschr. 1933, Nr. 27, S. 1048.
40. Meinicke: Med. Natur. Ges. 10. 7. 33 Münster, ref. in Med. Klin. 1933, Nr. 32, S. 1097.
41. Haag u. Dane: Klin. Wchschr. 1933, Nr. 40, S. 1574.
42. Nagell: Arch. f. Derm. u. Syphil. 1934, H. 2, S. 212.
43. Meinicke: Klin. Wchschr. 1934, Nr. 7 u. 23, S. 258 u. 833.
44. Haag u. Dane: Ztschr. f. Immunitätsforsch. 1933, H. 12, S.
45. Dörffel: Arch. f. Derm. u. Syphil. 1933, S. 11.

Lebenslauf.

Ich, Claus Popken, bin am 14. Februar 1909 als Sohn des selbständigen Kaufmanns August Popken und seiner Ehefrau Martha, geb. Buß, in Wilhelmshaven geboren.

Vom 6. bis zum 19. Lebensjahre besuchte ich dort das Kaiser-Wilhelms-Gymnasium und legte das Reifeexamen ab.

Ich studierte Medizin in Freiburg i. B., Greifswald, Wien und Münster und bestand dort am 7. Dezember 1933 vollständig das medizinische Staatsexamen. Als Medizinalpraktikant war ich tätig vom 15. Dezember 1933 bis zum 30. Januar 1934 in der Lungenheilstätte und serologischen Institut Ambrock (Chefarzt Prof. Dr. Meinicke), vom 1. Februar bis 15. Juli 1934 in der Chirurgischen Abteilung der Städtischen Krankenanstalten Königsberg (Chefarzt Prof. Dr. Boit) und vom 1. August bis zum 15. Dezember 1934 in der Medizinischen Universitätsklinik Freiburg i. B. (Chefarzt Prof. Dr. Bohnenkamp). Seit dem 15. Januar 1935 bin ich Volontärassistent im Pathologischen Institut der Universität Freiburg i. B. (Direktor: Prof. Dr. L. Aschoff).

Ich gebe die ehrenwörtliche Versicherung ab, die vorliegende Arbeit allein und nur mit Hilfe der angegebenen Literatur verfaßt zu haben.

Claus Popken.